



TITLE:

SALL4 - KHDRBS3 network enhances stemness by modulating CD44 splicing in basal-like breast cancer(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Matsumoto, Yoshiaki

CITATION:

Matsumoto, Yoshiaki. SALL4 - KHDRBS3 network enhances stemness by modulating CD44 splicing in basal-like breast cancer. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20999>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	松 本 純 明
論文題目	SALL4 - KHDRBS3 network enhances stemness by modulating CD44 splicing in basal-like breast cancer （ SALL4 - KHDRBS3 系はCD44 遺伝子のスプライシングを調節することでbasal-like 乳癌の幹細胞能を増強する ）		
（論文内容の要旨）			
<p>乳癌は複数のサブタイプに分けられる。そのうち basal-like 乳癌は高い幹細胞能を有し、悪性度が高く、さらに有効な治療標的が見出されていない。本研究では、転写因子 SALL4 が basal-like 乳癌の幹細胞能に寄与するメカニズムを明らかにした。</p> <p>乳癌細胞では、SALL4 は増殖能、移動能などに関わることが報告されているが、癌の幹細胞能との関係は十分には解明されていなかった。本研究では、まず basal-like 乳癌細胞株 SUM159 と Hs578T で shRNA システムを用いた SALL4 発現抑制を行い、SALL4 の幹細胞能への関与を調べるために、スフェア形成アッセイを行った。その結果、SALL4 発現抑制でスフェア形成能の有意な低下が認められ、SALL4 が basal-like 乳癌の幹細胞能を高めることを明らかにした。</p> <p>乳癌の幹細胞能に関わる CD44 の選択的スプライシングの変化を調べたところ、SALL4 発現抑制細胞でその変化が観察された。そして、公開されている SALL4 制御下の遺伝子群のリストからCD44のスプライシング因子として知られるKHDRBS3遺伝子を見出した。本研究の SALL4 発現抑制細胞でも KHDRBS3 の発現低下が見られ、SALL4 は KHDRBS3 発現を正に制御していることが明らかになった。さらに、KHDRBS3 発現抑制でもスフェア形成能の低下が見られ、KHDRBS3 過剰発現で SALL4 発現抑制によるスフェア形成能の低下が見られなくなった。これらの結果より、SALL4 は、KHDRBS3 遺伝子の発現増大を介し basal-like 乳癌の幹細胞能に寄与していることが明らかになった。</p> <p>次に、逆転写 PCR で、KHDRBS3 によって正に制御される CD44 の variant として exon8 と 9 が欠失した CD44v Δexon8-9 を同定した。そして、basal-like 乳癌細胞に CD44v Δexon8-9 過剰発現を導入し、KHDRBS3 発現抑制と組み合わせてスフェア形成アッセイを行った。その結果、KHDRBS3 発現抑制でコントロール細胞のスフェア形成能は低下したが、CD44v Δexon8-9 過剰発現細胞では低下しなかった。これにより、SALL4 - KHDRBS3 系が CD44 のスプライシングを調節して幹細胞能に寄与することが明らかになった。</p> <p>接着細胞が足場のない環境で細胞死することをアノイキスと呼ぶ。癌の幹細胞能の特徴の一つにアノイキス抵抗性がある。SALL4 - KHDRBS3 - CD44v Δexon8-9 系がアノイキス抵抗性を増強するか否かを決定するために、CD44v Δexon8-9 過剰発現と KHDRBS3 発現抑制を組み合わせ、アノイキスアッセイを行った。その結果、コントロール細胞では KHDRBS3 発現抑制でアノイキスを起こした細胞数が増加したが、</p>			

CD44v Δ exon8-9 過剰発現細胞ではKHDRBS3の発現抑制でもアノイキスを起こした細胞数は増加しなかった。この結果から、SALL4 - KHDRBS3 - CD44v Δ exon8-9 系はアノイキス抵抗性の増強により basal-like 乳癌細胞に幹細胞能を付与することが示唆された。
以上より、本研究は、KHDRBS3 が SALL4 の制御下で CD44 の選択的スプライシングを調節し、アノイキス抵抗性を付与するという basal-like 乳癌の幹細胞能制御システムの一端を明らかにした。この知見は、癌の幹細胞能を標的にした治療法開発への貢献が期待される。
（論文審査の結果の要旨）
Basal-like 乳癌は高い幹細胞能を有し、有効な治療標的が見出されていない。本研究では basal-like 乳癌細胞株 SUM159 と Hs578T を用いてスフェア形成アッセイを行い、転写因子 SALL4 が basal-like 乳癌の幹細胞能に寄与していることを示した。SALL4 の発現抑制時に癌幹細胞能に関わる CD44 遺伝子の選択的スプライシングに変化が観察されたことから、SALL4 制御下の遺伝子群に含まれる CD44 のスプライシング因子 KHDRBS3 に着目し、SALL4 が KHDRBS3 の発現増大を介して basal-like 乳癌の幹細胞能に寄与していることを明らかにした。次に、KHDRBS3 によって正に制御される CD44 の variantとして、CD44v Δ exon8-9 を同定し、スフェア形成アッセイによって、SALL4 - KHDRBS3 系が CD44 のスプライシングを調節して幹細胞能に寄与することを示した。さらに、CD44v Δ exon8-9 の過剰発現と KHDRBS3 の発現抑制を組み合わせたアノイキス実験から、SALL4 - KHDRBS3 - CD44v Δ exon8-9 系がアノイキス抵抗性の増強により basal-like 乳癌細胞の幹細胞能に寄与することを明らかにした。
以上の研究は basal-like 乳癌の幹細胞能制御システムの一端の解明に貢献し、乳腺腫瘍学の進歩に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 2 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降